Münster 1935 No 3 Phil DiSS

CHEMIE

Über Esterase-Modelle

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W.

vorgelegt von

Josef Baltes

aus Heggen Kr. Olpe i. W.

1935

Gutenberg-Druckerei Suhrbier & Bröcker, Münster (Westf.), Rosenplatz 10

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Februar 1935.

Dekan: Herr Prof. Dr. Trier

Referent: Herr Prof. Dr. Langenbeck

Korreferent: Herr Geheimrat Prof. Dr. Schenck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsübersicht

Seite

Einleitung 4

Theoretischer Teil 5

Auffindung und Aktivierung des Grundstoffes für Esterase-Modelle 5

Hemmung durch Alkohol 10

Die Struktur-Spezifität der Esterase-Modelle . . . 12

Zusammenfassung 15

Beschreibung der Versuche 16

Darstellung der Katalysatoren 16

Darstellung der Substrate 20

Katalytische Messungen 21

Einleitung

Die schwierigste Aufgabe der Enzymchemie ist wohl die Konstitutionsaufklärung der Fermente. Einmal stellen sich der Reindarstellung sehr große Hindernisse in den Weg, die in der geringen Konzentration, in der die Enzyme in der Natur vorkommen, und in ihrer mit steigendem Reinheitsgrade immer größer werdenden Unbeständigkeit und Empfindlichkeit begründet liegen. Zum anderen sind die Fermente zweifellos Gebilde von äußerst kompliziertem Bau, in die, vorausgesetzt, daß man sie in reinem Zustande vorliegen hat, ein Einblick sich nur mit größter Mühe gewinnen läßt. Aber selbst, wenn es gelingt, Aufschluß über den Bau des Enzymmoleküls zu erhalten, ist damit noch nichts gesagt über die katalytische Wirksamkeit der einzelnen Atomgruppen. Ob sich auf diesem Wege die letzte Frage überhaupt entscheiden läßt, ist zum mindesten unwahrscheinlich.

Auf andere Weise ist in den letzten Jahren dieser Fragenkomplex dem Ziele näher gerückt worden. W. Langenbeck und Mitarbeiter [1]) konnten in früheren Untersuchungen mit Hilfe der Carboxylase-Modelle den Beweis erbringen, daß die aktive Gruppe der Carboxylase eine NH_2-Gruppe ist. Es gelang, die Carboxylase- und andere Ferment-Modelle aus schwach wirksamen Katalysatoren durch systematische Aktivierung aufzubauen und in ihrer Wirkungsweise eine große Aehnlichkeit mit den entsprechenden Fermenten zu erzielen. Dagegen war das Auffinden der schwach wirksamen Katalysatoren, also der Grundstoffe für Fermentmodelle, bisher dem Zufall überlassen.

In der vorliegenden Arbeit soll nun der Weg gezeigt werden, der es möglich macht, diesen Grundstoff für Esterase-Modelle theoretisch zu konstruieren, zu erfinden. Sie befaßt sich weiterhin mit der Aufgabe, aus dem Grundstoffe durch systematische Abänderung der Konstitution Katalysatoren zu entwickeln, die in ihren Eigenschaften eine möglichst weitgehende Aehnlichkeit mit der Esterase zeigen.

[1]) Zusammengestellt bei W. Langenbeck, Untersuchungen über die chemische Natur der Fermente, Ergebn. Physiol. exper. Pharmakol. 35, S. 470 (1933).

Theoretischer Teil.

Auffindung und systematische Aktivierung des Grundstoffes für Esterase-Modelle.

Der Grundstoff einer Katalysatorenreihe muß eine Bedingung erfüllen. Er muß auf Grund seiner Konstitution die Fähigkeit besitzen, mit dem Substrat in der geforderten Weise reagieren zu können. Daß er tatsächlich in Reaktion tritt, ist nicht Bedingung; dazu kann er nämlich durch die spätere Aktivierung gezwungen werden.

Zur Auffindung eines Grundstoffes für Katalysatoren, welche die Esterhydrolyse beschleunigen, führten folgende Ueberlegungen:

Der Reaktionsmechanismus sämtlicher, bisher bekannter Hauptvalenz-Katalysen [2]) läßt sich nach einem einheitlichen Schema darstellen.

Für den Fall, daß aus zwei Reaktionsteilnehmern e i n Reaktionsprodukt entsteht, gilt das Schema I. Die Gleichung ist die einer einfachen Synthese. Wird eine solche Reaktion nun durch einen Katalysator beschleunigt, so verläuft sie über eine Zwischenstufe. Zunächst bildet sich aus dem einen Reaktionsteilnehmer und dem Katalysator eine Additionsverbindung (I, 1). Dieser Zwischenstoff besitzt aber gegenüber dem zweiten Reaktionsteilnehmer eine weit größere Umsetzungsgeschwindigkeit als die freie Komponente. Er tritt mit ihm zusammen unter gleichzeitigem Freiwerden des Katalysators (I, 2). Eine Katalyse, die einen solchen Verlauf nimmt, ist die Hydratisierung von Dicyan mit Acetaldehyd als Katalysator.

Die meisten Katalysen sind jedoch dadurch ausgezeichnet, daß sich z w e i Reaktionsprodukte bilden. Die entsprechende Gleichung zeigt das Bild einer Zerfallsreaktion (II). Eine diese Reaktion beschleunigende Katalysatorwirkung geht so vor sich, daß in der ersten Stufe eine Substitutionsverbindung aus Substrat und Katalysator zustande kommt (II, 1). Folglich wird

[2]) W. Langenbeck, l. c.

schon jetzt das eine Reaktionsprodukt in Freiheit gesetzt. Darauf zerfällt der Zwischenstoff in zweites Reaktionsprodukt und Katalysator (II, 2). Nach diesem Schema verläuft die katalytische Dehydrierung von Aminosäuren und die Spaltung von α-Ketosäuren.

Beide Reaktionsschemen haben die Eigenschaft gemeinsam, daß der Katalysator immer wieder regeneriert wird: Zusammen mit der Beschleunigung das wesentlichste Kennzeichen einer Katalyse.

Auf Grund dieser Regel soll nun der Grundstoff für Esterase-Modelle konstruiert werden. Für die Esterverseifung gilt offenbar das zweite Reaktionsschema, da ja zwei Reaktionsprodukte, Alkohol und Säure, entstehen. Der gesuchte Grundstoff muß folglich so beschaffen sein, daß bei seiner möglichen Reaktion mit dem Ester dieser in Alkohol und Säure gespalten wird. Die Spaltung setzt sich nach dem Schema aus zwei Teilreaktionen zusammen: In der ersten soll der Grundstoff mit dem Ester eine Substitutionsverbindung eingehen unter gleichzeitiger Abspaltung eines Reaktionsproduktes. Stoffe, die in dieser Weise reagieren, sind bekannt. Es sind Alkohole und Amine, die entsprechenden Reaktionen heißen Umesterung und Amidbildung. In beiden Fällen wird aus dem Ester Alkohol abgespalten. Beide Umsetzungen erfüllen auch die zweite Forderung des Schemas: Ester und Säureamide lassen sich mit Wasser in Säure und Alkohol bezw. Amin spalten. Die Bedingungen für das Zustandekommen einer Katalyse sind also erfüllt. Beide Verbindungsklassen, Alkohole wie Amine, sind mithin als Katalysatoren grundsätzlich brauchbar. Im folgenden ist die erste Möglichkeit gewählt und die Esterhydrolyse bei Gegenwart von Alkoholen studiert worden.

Der einfachste Alkohol ist der Methylalkohol. Er stellt folglich den Grundstoff dar für Katalysatoren, welche die Esterhydrolyse beschleunigen.

I. $A + B = AB$

1) $A + K = AK$; 2) $AK + B = AB + K$.

(A und B = Substrate, AB = Reaktionsprodukt, K = Katalysator).

II. $AB = A + B$

1) $AB + K = AK + B$; 2) $AK = A + K$.

(AB = Substrat, A und B = Reaktionsprodukte, K = Katalysator).

III. 1) $\begin{matrix} CH.O.CO.CH_3 \\ | \\ CH_2 \end{matrix} + C_6H_5.CH_2OH =$

$$C_6H_5.CH_2.O.CO.CH_3 + \begin{matrix} CH.OH \\ | \\ CH_2 \end{matrix};$$

2) $C_6H_5.CH_2.O.CO.CH_3 + \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\rangle CH.OH =$

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\rangle CH.O.CO.CH_3 + C_6H_5.CH_2.OH.$$

IV. 1) $C_3H_7.CO.O.CH_3 + R.CH_2OH \rightleftharpoons$

$$R.CH_2.O.CO.C_3H_7 + CH_3.OH;$$

2) $R.CH_2.O.CO.C_3H_7 + H_2O \longrightarrow$

$$C_3H_7.COOH + R.CH_2OH.$$

(R = $C_6H_5.NH.CO$ — oder $C_6H_5.CO$ — oder $C_8H_9.CO$ — u. s. f.).

Die aktive Gruppe des Grundstoffes Methylakohol ist die $CH_2.OH$-Gruppe. Ihre Wirksamkeit kann durch Einführung aktivierender Gruppen, analog den Carboxylase-Modellen, erhöht werden.

Es ist selbstverständlich, daß ein Zusatz von Methylalkohol zu einer Esterverseifung noch keine Beschleunigung der Reaktion hervorruft. Auch bei den nächst folgenden Gliedern der Katalysatorreihe kann bei dieser Versuchsanordnung die Wirksamkeit voraussichtlich nicht in Erscheinung treten, weil sie noch zu gering sein wird. Denn die direkte Verseifung des Esters durch Wasser wird gegenüber der katalytischen noch

unverhältnismäßig groß sein. Um aber auch diese geringe Aktivität feststellen zu können, ist es erforderlich, die Hauptreaktion so weit wie möglich zu verlangsamen. In dieser Richtung hat R. Hutschenreuter [3]) vor zwei Jahren im hiesigen Institut Versuche unternommen, die zeigten, daß es prinzipiell möglich ist, die Umesterung eines reaktionsträgen Esters mit einem sekundären Alkohol durch Zusatz einfacher primärer Alkohole zu beschleunigen. Als Substrate dienten polymeres Vinylacetat [4]) und Isopropylalkohol (III). Der Unterschied zwischen dieser Versuchsanordnung und einer katalytischen Esterhydrolyse (IV) besteht darin, daß die Spaltung des Substitutionsproduktes nicht durch Wasser (IV, 2), sondern durch einen sekundären Alkohol vollzogen wird (III, 2). Direkt auf den Ester wirkt der sekundäre Alkohol wegen seiner Reaktionsträgheit garnicht bezw. nur in ganz geringem Grade ein; die Hauptreaktion ist also verlangsamt. Auf diese Weise konnte die Aktivität verschiedener Alkohole gemessen werden. Am stärksten wirksam erwies sich das Anilid der Glykolsäure. Auch Benzoylcarbinol war recht aktiv im Vergleich zu Benzylalkohol. Aber schon bei einigen Substitutionsverbindungen des Benzoylcarbinols versagte diese Versuchsanordnung infolge ihrer schroffen Bedingungen — das Reaktionsgut wird im geschlossenen Rohr auf 160 ° erhitzt. Gegenüber einer solchen Behandlung waren diese Katalysatoren schon zu empfindlich; sie zersetzten sich. Mit Rücksicht auf die immerhin schon beträchtliche Aktivität einiger Katalysatoren erschien es nicht aussichtslos, diese auch zur Hydrolyse des Buttersäure-Methylesters zu verwenden (IV).

Die Meßmethode schloß sich der bekannten Bestimmung der natürlichen Esterase nach Knaffl-Lenz [5]) an. Als Substrate diente n-Buttersäure-Methylester, als Indikator Phenolphtalein ($p_H = 8{,}3$). Die Versuchstemperatur betrug 80 ° bezw. 70 °. Die Beschleunigung der Hydrolyse war bei Anwendung von Glykolsäure-anilid eine 4—5fache; mit Benzoylcarbinol wurde der Ester 6—7mal rascher gespalten als im Blindversuch. Um eine

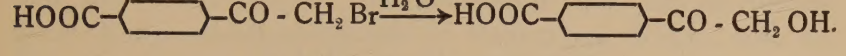
---

[3]) Bei W. Langenbeck, l. c.

[4]) Der I.-G.-Farbenindustrie A.-G. Höchst a. M. und dem Konsortium für elektrotechnische Industrie München danke ich bestens für die Ueberlassung von polymerem Vinylacetat.

[5]) E. Knaffl-Lenz, Arch. experim. Pathol. 97, S. 242 (1923).

weitere Steigerung der Aktivität zu erzielen, wurde am Benzoylcarbinol substituiert. Dabei konnte die bisher unbekannte ω-Oxy-acetophenom-4-carbonsäure dargestellt werden, die aus der entsprechenden Bromverbindung durch Kochen mit Wasser entsteht:



Diese Substanz hatte die bemerkenswerte neue Eigenschaft, die Spaltung von anorganischen Estern zu beschleunigen. Sowohl äthylschwefelsaures Kalium als auch phenylschwefelsaures Kalium wurden von ihr angegriffen. Infolge der leichten Verseifbarkeit der Bromverbindung war das zu vermuten, da diese ja selbst ein anorganischer Ester ist. Hinsichtlich der Wirkungsweise dieses Carbinols bestehen mithin Aehnlichkeiten mit der Sulfatase. Allerdings vermag keine Sulfatase — von Methylbutyrat natürlich ganz abgesehen — äthylschwefelsaures Kalium zu spalten. Ihre Wirksamkeit beschränkt sich auf Phenylschwefelsäure und wenige andere Schwefelsäureester. Diese spezifischen Eigenschaften fehlen der Oxyacetophenoncarbonsäure vollständig. Die Darstellung der analogen 3,4-Dicarbonsäure gelang nicht. Das durch Bromieren von Acetophenon-3,4-dicarbonsäure neu erhaltene Produkt ließ sich nicht in ein kristallines Carbinol überführen; mit derselben Widerspenstigkeit begegnete die ω-Brom-acetophenon-3-nitro-4-carbonsäure allen Versuchen in dieser Richtung. Außerdem wurden noch folgende andere Gruppen in das Molekül des Benzoylcarbinols eingeführt: $CH_3 . CO . NH$-, NH_2-, $CH_3 . O$-, NO_2- in 4-Stellung, NO_2- in 3-Stellung. Aber alle diese Verbindungen übertrafen nicht die Wirksamkeit der Stammsubstanz, ja, sie erreichten sie nicht einmal. Alle in diese Stellungen eingeführten Gruppen hatten also hemmende Eigenschaften. Erst die Anfügung eines neuen Benzolringes an das Benzoylcarbinol brachte den gewünschten Erfolg. Das β-Naphtoylcarbinol zeigte eine Steigerung der Aktivität um 80 % gegenüber Benzoylcarbinol. Die Aktivierung der $CH_2 OH$-Gruppe ist also vom Grundstoff aus zweimal gelungen.

Bei Anwendung von Benzoylcarbinol ließ sich auch eine Emulsion von Olivenöl verseifen, in der das Oel durch einen

Zusatz von desoxy-cholsaurem Natrium z. T. in Lösung gebracht war. Die relative Beschleunigung war ebenso groß wie gegen Methylbutyrat, wenn auch die Absolutwerte wegen der geringen Löslichkeit des Oeles viel tiefer lagen.

Hemmung durch Alkohol.

Die bisher gefundene äußerliche Gleichartigkeit der Reaktionen von Modell und Ferment läßt noch keinen Schluß ziehen auf eine ähnliche Konstitution der beiden Katalysatoren. Dazu muß gefordert werden, daß die Modelle außer in dieser Eigenschaft noch in anderen wesentlichen Einzelheiten mit der Esterase übereinstimmen.

Auf Grund der Gl. IV läßt sich eine andere Eigenschaft der Modellreaktion voraussagen, eine Eigenschaft, die das Ferment ebenfalls besitzt.

Die Teilumsetzung IV, 1 ist eine Gleichgewichtsreaktion. Durch Zugabe von Alkohol muß sich also die Gleichgewichtslage nach links verschieben lassen, d. h. durch diesen Zusatz wird die Konzentration des Zwischenstoffes vermindert. N u r durch diese Konzentrationsverringerung muß aber die Geschwindigkeit der Katalyse abfallen, da ja die Folgereaktion (IV, 2) eine irreversible alkalische Verseifung ist: Ein Zusatz von Alkohol wirkt hemmend. Tatsächlich ergab sich, daß die Beschleunigung in 50-proz. n-Propylalkohol nur 1,3-fach, in 50-proz. Aceton dagegen 3,0-fach ist.

Hemmungserscheinungen an der Esterase sind schon lange bekannt und eingehend untersucht. Ihre bisherige Deutung läßt jedoch sich nicht in Einklang bringen mit meinen Befunden am Modell. Es ist aber ohne Schwierigkeit möglich, den Mechanismus der Fermentreaktion analog dem der Modellreaktion zu formulieren.

Die Hemmung durch Alkohol ist eine solche „erster Art", d. h. sie kommt zustande durch eine Verdrängungsreaktion an der aktiven Gruppe des Katalysators. Nach der Theorie von

Michaelis und Menten [6]) kann das Enzym sowohl mit dem Substrat als auch mit dem Hemmungskörper eine Verbindung eingehen. In neueren Arbeiten von Schwab, Bamann und Laeverenz [7]) über die Konfigurations-Spezifität der Leberesterase (des Menschen) wird außerdem noch die Existenz eines dritten Komplexes, Enzym-Substrat-Alkohol, angenommen. Dadurch, daß die Verbindungen Enzym-Substrat mit Enzym-Alkohol bezw. Enzym-Substrat-Alkohol in Konkurrenz treten, soll die Hemmung zustande kommen. Das bedeutet: Die Ursache der Hemmung ist in einer Konzentrationsherabsetzung des freien Katalysators zu suchen.

Im Gegensatz zu dieser Auffassung steht die Erklärungsweise nach W. Langenbeck [8]). Danach bildet sich aus Enzym und der einen Substrathälfte unter gleichzeitiger Freisetzung der zweiten der Zwischenstoff. Das freigewordene Reaktionsprodukt, hier der Alkohol, ist der Hemmungskörper. Durch Erhöhung seiner Konzentration wird die Gleichgewichtslage nach der Seite des freien Katalysators verschoben. Die Folge ist eine Konzentrationsverminderung des Zwischenstoffes: Katalysator-Säure; die Geschwindigkeit der Reaktion fällt ab. Die Konzentration des freien Katalysators erfährt zwangsläufig eine Steigerung.

Die letzte Deutung ist die einleuchtendere, weil sie durch das Experiment gestützt ist. Die Befunde am Ferment lassen sich ohne Schwierigkeit in diese Theorie einordnen, und in den Untersuchungen an Carboxylase-Modellen hat sie ihre erste Probe bestanden. Eine wichtige Eigenschaft der Esterase-Modelle konnte mit ihrer Hilfe sogar vorausgesagt und damit ihre Brauchbarkeit wohl nicht schlagender bewiesen werden. Andererseits ist es wahrscheinlicher geworden, daß die Konstitution der Modelle mit der des Fermentes in Beziehung gesetzt werden kann. Zum mindesten konnte noch keine Beobachtung gemacht werden, die gegen das Vorhandensein der gleichen aktiven Gruppe in den beiden Katalysatoren spricht.

---

[6]) L. Michaelis und M. L. Menten, Biochem. Z. 49, S. 333 (1913).

[7]) G.-M. Schwab, E. Bamann und P. Laeverenz, Hoppe-Seylers Z. 215, S. 121 (1933).

[8]) W. Langenbeck, l. c.

Eindeutig entschieden wurde diese schon recht wahrscheinliche Vermutung durch das Studium der Spezifität.

Die Carboxylase-Modelle hatten mit dem entsprechenden Ferment die Eigenschaft gemeinsam, daß sie Trimethylbrenztraubensäure nicht spalten. Die Spezifität der Esterase aber ist eine bedeutend ausgeprägtere. Außerdem ist sie fast erschöpfend untersucht worden.

Vor mehr als 30 Jahren machte J. H. Kastle [9]) die Feststellung, daß die sauren Ester der Oxal-, Bernstein-, Fumar- und Phtalsäure von der Esterase nicht angegriffen werden. Nach langer Zeit wurden diese bedeutungsvollen Tatsachen aufgegriffen und dahin ergänzt [10]), daß auch der Halbester der Malonsäure durch das Ferment nicht gespalten wird, die Diäthylester der genannten Säuren aber bis zur Stufe des Halbesters verseift werden. Erst wenn die beiden Carboxylgruppen in weiterer Entfernung voneinander stehen, erscheint die Beschleunigung der Hydrolyse wieder: Adipinsäure-monoäthylester wird durch Esterase angegriffen. Alle diese Ester tragen zwei Carboxylgruppen in ihrer Säurekomponente. Kürzlich konnten E. Bamann und Mitarbeiter [11]) zeigen, daß auch die Einführung einer Carboxylgruppe in die alkoholische Komponente des Esters dessen Spaltbarkeit in den meisten Fällen zum Verschwinden bringt. So wird die Hydrolyse der Lactylmilchsäure, der Acetylmandelsäure und der Acetylsalicylsäure durch Esterase nicht beschleunigt.

Es konnte nicht erwartet werden, daß die oben beschriebenen einfachen Modelle schon dieselbe fein abgestimmte Spezifität besitzen. Vermutungen in dieser Richtung erschienen zum mindesten verfrüht.

Um die Wirksamkeit der Modelle bei verschiedenen Substratkonzentrationen zu bestimmen, mußte ein in Wasser leicht löslicher Ester zur Verfügung stehen. Die Wahl fiel auf den

[9]) J. H. Kastle, Amer. chem. J. 27, S. 481 (1902).
[10]) A. A. Christman und H. B. Lewis, J. of biol. Chem. 47, S. 495 (1921). E. C. Hyde und H. B. Lewis, ebenda 56, S. 7 (1923).
[11]) E. Bamann, E. Schweitzer und M. Schmeller, Hoppe-Seylers Z. 222, S. 121 (1933).

Bernsteinsäure-monoäthylester. Das Meßresultat war überraschend: Er wurde von Benzoylcarbinol nicht angegriffen. Weitere Messungen zeigten, daß sich auch Malonsäure-monoäthylester und Acetylmandelsäure indifferent verhielten. Mit einiger Spannung untersuchte ich dann die Spaltbarkeit von Adipinsäure-monoäthylester: Seine Hydrolyse wurde durch Benzoylcarbinol beschleunigt. Ganz dieselben Eigenschaften besitzt das Glykolsäureanilid, das dem Benzoylcarbinol ja auch in seiner Aktivitätsgröße ziemlich nahe steht. Von der ω-Oxy-acetophenon-4-carbonsäure dagegen wird der Bernsteinsäure-monoäthylester merklich angegriffen; dieser Katalysator besitzt gegenüber sauren Estern keine Spezifität. Die Einführung der Carboxylgruppe in das Molekül des Benzoylcarbinols hat also das Verschwinden der letztgenannten Eigenschaft und das Auftreten einer neuen Erscheinung — die Angreifbarkeit anorganischer Ester durch den Katalysator — bewirkt. Der Fall zeigt, wie die katalytischen Eigenschaften einer Substanz durch eine verhältnismäßig geringfügige Veränderung ihrer Konstitution abgewandelt werden können.

Die direkte Verseifung der nicht spaltbaren Halbester durch Wasser ist ziemlich erheblich und größer als die von Adipinsäure-monoäthylester. Um so auffälliger ist ihr Verhalten gegen die Modelle. Es zeigt den grundsätzlichen Unterschied zwischen der Wirkungsweise von Hydroxyl-Jonen und der von alkoholischen OH-Gruppen.

Die Esterase-Modelle, Verbindungen von Typus eines primären A l k o h o l s , stimmen in ihren spezifischen Eigenschaften mit denen der Esterase überein.

Die Ursache für das Versagen der Hydrolyse von sauren Estern sieht Kastle [12]) in der Ionisation der Estersalze und in der Unfähigkeit der Esterase, sich mit Ionen zu vereinigen. Durch die Spaltung des Adipinsäure-monoäthylesters wurde diese Ansicht widerlegt. D. A. McGinty und H. B. Lewis [13]) führen die festere Bindung der zweiten Aethylgruppe dafür an. Nach Bamann und Mitarbeitern [14]) war die Frage zu prüfen, ob die Beständigkeit der sauren Ester gegenüber Esterase auf

[12]) J. H. Kastle, l. c.

[13]) D. A. McGinty und H. B. Lewis, J. of biol. Chem. 67. S. 567 (1926).

[14]) E. Bamann, E. Schweitzer und M. Schmeller, l. c.

mangelnder Affinität oder auf zu geringer Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung beruht. Wenn die letzte Vermutung zutrifft, muß die Hydrolyse von Methylbutyrat auf Zusatz eines nicht spaltbaren sauren Esters gehemmt werden, da in dem Falle der Katalysator gebunden wird. Eine solche Hemmung ist bisher nicht beobachtet worden, und deshalb nehmen die letztgenannten Forscher fehlende Affinität an.

Ein ganz analoges Verhalten zeigen wieder die Modelle. Die Verseifung von Methylbutyrat wird durch Zugabe von Bernsteinsäure-monoäthylester nicht gehemmt. Die Anzahl der bei dieser Messung verbrauchten ccm Lauge ist fast genau gegeben durch die Summe der Spaltung von Methylbutyrat mit Katalysator und der nicht katalytischen Verseifung von Bernsteinsäure-monoäthylester.

Daß die Bamann'sche Erklärung dieser Tatsache aber noch nicht eindeutig ist, zeigen folgende Ueberlegungen: Wenn der Bernsteinsäure-monoäthylester mit Glykolsäureanilid verseifbar wäre, müßte die Reaktion folgenden Verlauf nehmen:

1) $\begin{matrix} CH_2.CO.O.C_2H_5 \\ | \\ CH_2.CO.OH \end{matrix} + HO.CH_2.CO.NH.C_6H_5 \rightleftharpoons \begin{matrix} CH_2.CO.O.CH_2.CO.NH.C_6H_5 \\ | \\ CH_2.CO.OH \end{matrix}$

2) $\begin{matrix} CH_2.CO.O.CH_2.CO.NH.C_6H_5 \\ | \\ CH_2.CO.OH \end{matrix} + H_2O = \begin{matrix} CH_2.COOH \\ | \\ CH_2.COOH \end{matrix} + HO.CH_2.CO.NH.C_6H_5.$

Für den Fall, daß Teilreaktion 1) eine merkliche Geschwindigkeit besitzt, 2) dagegen nicht, würde wenigstens ein Teil des Katalysators gebunden werden. Die Folge wäre — in derselben Weise auch bei der Esterase — eine Hemmung der Hydrolyse. Da sie nicht eintritt, wird der Katalysator auch nicht gebunden. Durch diesen Versuch ist aber nicht die Frage entschieden, ob die Bindung nicht erfolgt wegen mangelnder Affinität oder wegen zu geringer Reaktionsgeschwindigkeit der Teilumsetzung 1). Erst Gleichgewichtsmessungen an den Esterase-Modellen können hier Klarheit schaffen.

Zusammenfassung.

Aus einem wenig reaktionsfähigen Grundstoffe konnten durch systematische Aktivierung Katalysatoren entwickelt werden, die in ihrer Kinetik und Spezifität so weitgehende Analogien zu den Esterasen besitzen, daß damit das Vorhandensein einer alkoholischen Hydroxylgruppe und zwar als aktive Gruppe im Esterasemolekül bewiesen ist. Die Esterasen sind demnach Hauptvalenz-Katalysatoren im Sinne der Theorie von W. Langenbeck [15]). Der einzige Unterschied zwischen Ferment und Esterase-Modellen besteht noch in der geringeren Wirksamkeit der letzteren. Inzwischen ist es jedoch gelungen [16]), die Aktivität der Carboxylase-Modelle so stark zu erhöhen, daß die aktivsten Glieder nur etwa 20 mal weniger wirksam sind als ein kristallisiertes Fermentpräparat von Northrop [17]), eine kleine Spanne, wenn man bedenkt, daß die Aktivität um das 4000-fache, bezogen auf den Grundstoff, gesteigert worden ist. Daß die Wirksamkeit der Esterase-Modelle im selben Maße erhöht werden kann, darf danach erwartet werden.

Ein weiteres Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist darin zu sehen, daß es gelungen ist, eine Methode zur Erfindung von Grundstoffen für Katalysatorreihen zu entwickeln. Dabei ist diese Methode nicht auf die speziellen Fälle der Enzymchemie beschränkt, sondern es ist grundsätzlich möglich, in gleicher Weise Katalysatoren für alle organischen Reaktionen, die über Zwischenstufen verlaufen, zu erfinden. Die Bedeutung für die präparative Chemie und die Technik ergibt sich daraus ohne weiteres.

[15]) W. Langenbeck, l. c.
[16]) W. Langenbeck, R. Jüttemann und F. Hellrung, A. 512, S. 279 (1934).
[17]) J. H. Northrop: Science (N. Y.) 69, S. 580 (1929), J. gen. Physiol. 13, S. 739, 767 (1930), 14, S. 713 (1931), Ergeb. Enzymforsch. 1, S. 302 (1932).

Beschreibung der Versuche.

Darstellung der Katalysatoren.

α-Naphtylcarbinol nach K. Ziegler [18]) über die entsprechende Naphtylmagnesiumverbindung.

Glykolsäure-anilid wurde dargestellt durch Erhitzen molarer Mengen Glykolsäure und Anilin in der bekannten Weise. Das Rohprodukt wurde so oft aus Wasser umkristallisiert, bis es vollkommen farblos war.

Benzoylcarbinol. Ein Versuch, dieses Carbinol aus ω-Chlor-acetophenon durch Umsetzung mit Kaliumacetat und Verseifung des Essigesters nach den Angaben von W. L. Evans[19]) zu synthetisieren, führte zu einem öligen, nicht kristallisierenden Produkt. Dagegen verlief die Herstellung nach Th. Zinke [20]) — das Ausgangsprodukt ist Styrol — glatt.

3-Nitro-benzoylcarbinol wurde erhalten nach den Angaben von W. L. Evans [21]). Darstellung des Ausgangsproduktes, 3-Nitro-acetophenon, nach Ruge [22]).

4-Nitro-benzoylcarbinol nach der Vorschrift von O. Engler [23]) aus 4-Nitro-acetophenon durch Bromieren, Umsetzung mit Kaliumacetat und Verseifung des Esters.

4-Acetamino-benzoylcarbinol. Die Darstellung erfolgte nach F. Kunkell [24]). Ein Teil des dabei anfallenden 4-Acetamino-ω-chlor-acetophenons wurde nach den Angaben desselben Verfassers [25]) auf

4-Amino-benzoylcarbinol verarbeitet.

4-Methoxy-benzoylcarbinol. Ausgangsprodukt war 4-Methoxy-ω-chlor-acetophenon, dargestellt nach F. Kunkell [26]). Seine Umwandlung in das Carbinol erfolgte nach Tiffeneau [27]) in der bekannten Weise über den Essigester.

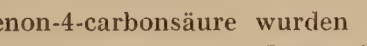
[18]) B. 54, S. 739 (1921).
[19]) Am. 35, S. 119 (1906).
[20]) A. 216, S. 305—307 (1882).
[21]) Amer. Soc. 30, S. 406, 407 (1903).
[22]) B. 34, S. 3522 (1901).
[23]) B. 22, S. 204 (1882).
[24]) B. 33, S. 2644 (1900).
[25]) ebenda.
[26]) B. 30, S. 1715 (1897).
[27]) C. r. d. l'Acad. des Sciences, 150. S. 1881 (1910).

β - Naphtoylcarbinol wurde gewonnen aus β-Methyl-naphtyl-keton durch Bromierung dieser Verbindung, Umsetzung mit Kaliumacetat und Verseifung des Essigesters. Das Verfahren ist von W. Madelung [28]) beschrieben.

Acetophenon-4-carbonsäure.

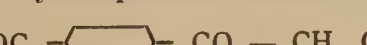
Das entsprechende Nitril wurde nach der Vorschrift von Ahrens [29]) aus 4-Amino-acetophenon dargestellt. Die von demselben Verfasser angegebene Verseifung des Nitrils mit alkoholischer Kalilauge ergab nur geringe Ausbeuten. Dagegen erwies sich die Verseifung mit Schwefelsäure als vorteilhaft. 8 g 4-Cyan-acetophenon wurden mit der 4-fachen Menge verdünnter Schwefelsäure (1:1) am Rückflußkühler zum gelinden Sieden erhitzt. Nach 15 Minuten begannen sich Kristalle abzuscheiden, und nach ½-stdg. Kochen war die Verseifung vollständig. Nach Verdünnen mit Wasser wurde abfiltriert und die Säure aus heißem Wasser umkristallisiert. Schmp. 205°. Die Ausbeute betrug 3,5 g.

ω-Brom-acetophenon-4-carbonsäure.



0,5 g Acetophenon-4-carbonsäure wurden in Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 0,5 g Brom in Eisessig unter schwachem Erwärmen tropfenweise versetzt. Beim Verdünnen mit Wasser schied das Bromderivat aus, das beim Umkristallisieren aus Chloroform farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Schmp. 220—221° ergab. Die Ausbeute war theoretisch. 3,18 mg Substanz: 2,47 mg AgBr. Ber. Br 32,9 Gef. Br 33,06.

ω-Oxyacetophenon-4-carbonsäure.



3 g ω-Brom-acetophenon-4-carbonsäure wurden mit 400 ccm Wasser 3 Stdn. am Rückflußkühler gekocht. Das Bromid hatte

[28]) B. 65, S. 939 (1932).
[29]) B. 20, S. 2956 (1887).

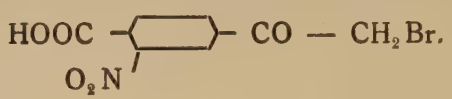
sich dann bis auf einen kleinen Rest gelöst. Nun wurde mit Tierkohle kurz aufgekocht und abfiltriert. Beim Erkalten schieden sich farblose Nadeln ab, die bei 248—250° unter Gelbfärbung und Zersetzung schmolzen und sich als vollständig rein erwiesen. Ausbeute: 2 g. Im Filtrate konnten mit Sibernitrat große Mengen Bromwasserstoffsäure nachgewiesen werden. Die ω-Oxyacetophenon-4-carbonsäure reduziert schon in der Kälte rasch Fehlingsche Lösung.

27,5, 30,0 mg Sbst.: 60,5, 66,3 mg CO_2, 11,6, 12,4 mg H_2O.

Ber. C 60,0, H 4,44. Gef. C 60,3, 60,0, H 4,7, 4,6.

Die Säure bildet ein leicht lösliches Barium-Salz, das bei den katalytischen Messungen verwandt wurde.

4-Bromacetyl-2-nitro-benzol-1-carbonsäure.



Die Darstellung der 3-Nitro-acetophenon-4-carbonsäure erfolgte nach den Angaben von F. Mayer[30]). 2 g dieser Säure wurden in Chloroform gelöst und unter Erwärmen mit einer Lösung von 1,53 g Brom in Chloroform tropfenweise versetzt. Nach dem Eindampfen auf etwa 10 ccm fielen beim Erkalten hellgelbe Nadeln aus, die, aus wenig Aether und Chloroform umkristallisiert, zwischen 158—159° schmolzen.

Ausbeute: 2,5 g.

42,8 mg Sbst.: 59,2 mg CO_2, 8,6 mg H_2O.
Ber. C 37,5, H 2,09, Gef. C 37,7, H 2,25.

39,35 mg Sbst.: 25,45 mg AgBr.
Ber. Br 27,78, Gef. Br 27,52.

10,29 mg Sbst.: 0,443 ccm N_2 (23°, 750 mm Hg).
Ber. N 4,86, Gef. N 4,90.

Versuche, diese Verbindung zum Carbinol zu verseifen, waren erfolglos. Das Brom wurde wohl abgespalten, aber gleichzeitig verharzte der Körper vollständig.

---

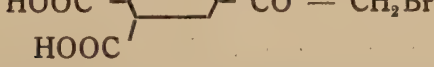
[30]) B. 65, S. 1334 (1932).

4-Acetyl-phtalsäure.

Diese Säure wurde dargestellt nach den Angaben von F. Mayer [30]) ausgehend vom Chlorbenzol. Zwecks Erlangung einer besseren Ausbeute wurde die letzte Stufe der Synthese, die Verseifung des 4-Acetyl-2-nitrilo-benzol-1-carbonsäure-methylesters, modifiziert. Zu ihrer Ausführung diente Salzsäure von 28 % HCl, während Mayer konzentrierte vorschreibt. Benutzt man letztere, so verkohlt aber ein großer Teil des Nitrils. Durch eine Verdünnung der Säure auf die oben angegebene Konzentration konnte das verhindert werden. Nach 6-stdg. Sieden war die Verseifung beendet. Nun wurde mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt, mit Tierkohle kurz aufgekocht und filtriert. Beim Erkalten des Filtrates fiel die Säure in hellgelben Kristallen nahezu quantitativ aus. Schmp. 210°. Ausbeute aus 10 g Nitril: 8 g reine Säure. Auf diese Weise konnte das vom Verfasser angegebene Eindampfen der Reaktionsflüssigkeit und das zeitraubende Extrahieren mit Aether — die Säure ist darin ziemlich schwer löslich — vermieden werden.

Trotz zweimaliger Durchführung der langwierigen Synthese gelang es aber nicht, die von Mayer angegebene Ausbeute von 13 %, bezogen auf das Ausgangsprodukt Chlorbenzol, zu erreichen. Ich erhielt in beiden Fällen trotz Verbesserung der letzten Stufe der Synthese eine Ausbeute von 4 % Acetyl-phtalsäure, bezogen auf das Ausgangsmaterial.

ω-Brom-acetophenon-3,4-dicarbonsäure.



Eine Lösung von 1 g Acetylphtalsäure in möglichst wenig Eisessig wurde unter gelindem Erwärmen mit 0,8 g Brom in Eisessig langsam nach Maßgabe des Bromverbrauches versetzt, darauf im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit wenig Aether aufgenommen. Langsames Versetzen der ätherischen Lösung mit Petroläther bewirkte die Ausfällung der Bromverbindung in farblosen, rechteckigen Tafeln.

Schmp. 174—175° (Zersetzung). Die Ausbeute war theoretisch.

Die Bromacetylphtalsäure ist sehr leicht löslich in Wasser, Alkohol, Aether, Eisessig, unlöslich in Petroläther und Ligroin. 6,34 mg Sbst.: 4,18 mg AgBr. Ber. Br 27,86, Gef. Br 28,06.

Die Bromacetylphtalsäure konnte nicht in das entsprechende kristalline Carbinol übergeführt werden. Sämtliche möglichen Verseifungsversuche ergaben immer nur ein öliges Produkt.

Darstellung der Substrate.

Phenolschwefelsaures Kalium nach Verley [31]) und Czapek [32]) aus Phenol und Chlorsulfonsäure.

Kaliumsalz des Malonsäure-monoäthylesters durch partielle Verseifung des Malonsäure-diäthylesters mit Kalilauge. Verfahren nach Freund [33]).

Bariumsalz des Bernsteinsäure-monoäthylesters. Um dieses Estersalz darzustellen, wurde nach Heintz [34]) verfahren. Seine Reinigung erfolgte durch zweimaliges Lösen in absolutem Alkohol und Ausfällen mit Aether.

Acetylmandelsäure. Die nach der Vorschrift von R. Anschütz und R. Böcker [35]) in Form eines öligen Rückstandes gewonnene Säure wurde nach den Angaben von F. Kaufler und C. Herzog [36]) mit Wasser ausgewaschen, wodurch sie in eine kristalline Masse überging. Nach zweimaliger Umkristallisation aus Wasser zeigte die Säure den Schmp. 52 °.

Kaliumsalz des Adipinsäure-monoäthylesters. Der Halbester wurde dargestellt nach der Methode von E. E. Blaise [37]) und zeigte nach dem Destillieren im Vakuum den Schmp. 29 °.

---

[31]) Ch. C. 1901, I, S. 313.
[32]) Ch. C. 1914, II, S. 830.
[33]) B. 17, S. 780 (1884).
[34]) J. 1859, S. 280.
[35]) A. 368, S. 53 (1909).
[36]) B. 42, S. 3858 (1909).
[37]) Bull. Soc. Chim. de France, 7, S. 215 (1910).

Zur Darstellung des K-Salzes wurde der saure Ester in absolutem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Kalilauge genau neutralisiert. Beim Versetzen dieser Lösung mit Aether fiel das Salz in kristalliner Form aus. Befreiung von etwa vorhandenem Diäthylester durch oftmaliges Waschen mit Aether.

Katalytische Messungen.

Umesterung von polymerem Vinylacetat.

1,7 g = 0,002 Mol. einer 10-proz. Lösung von polymerem Vinylacetat (Movilith der I.-G. Farbenindustrie oder Vinapas B des Konsortiums für elektrochemische Industrie) in Chinolin wurden mit 3 ccm einer 1-proz. Lösung von Kaliumacetat in Isopropylalkohol und 0,01—0,002 Mol. Katalysator in dickwandige Röhrchen eingeschmolzen und 10—15 Stdn. im Dampf von siedendem Cyclohexanol (etwa 160°) erhitzt. Als Vergleichsmessung diente ein zweites Röhrchen, das dieselbe Füllung, aber ohne Katalysator, enthielt und in demselben Dampfbade erwärmt wurde. Nach beendeter Versuchsdauer wurde der Inhalt mit Alkohol in einen Destillationsapparat gespült, wie ihn Freudenberg und Harder [38]) für die Acetylbestimmung beschrieben haben. Die Vorlage war mit n/10 Barytlauge beschickt, in die der gebildete Essigsäure-isopropylester mit Wasserdampf übergetrieben und durch $^1/_2$-stdgs. Erwärmen zur Siedehitze verseift wurde. Zurücktitrieren mit n/10 Salzsäure ergab die vom Ester verbrauchte Laugenmenge. Die Vorlage war während der Versuchsdauer vor dem Zutritt von Kohlensäure aus der Luft sorgfältig geschützt.

[38]) A. 433, S. 230 (1923).

Katalysator	Menge in Molen	Versuchsdauer Stdn.	Verbr. ccm n/10 Lauge ohne Katalysator	mit Katalysator
Benzylalkohol	0,01	10	2,21	4,55
α-Naphtylcarbinol	0,005	15	3,00	4,92
Glykolsäureanilid	0,002	15	3,00	7,40
Benzoylcarbinol	0,002	15	2,26	5,02

Verseifung von n-Buttersäuremethylester.

In ein Reagenzglas von etwa 10 ccm Länge wurden $5 \cdot 10^{-4}$ — $2 \cdot 10^{-4}$ Mol Katalysator eingewogen und in 2 ccm kohlensäurefreiem Wasser gelöst. Ein bis zum Boden reichendes, oben rechtwinklig gebogenes enges Glasröhrchen wurde dann in das Gefäß gestellt und mittels eines Gummiringes festgeklemmt. Das Ganze kam in einen Thermostaten von 80°. Nach einiger Zeit wurde ein Tropfen einer alkoholischen Lösung von Phenolphtalein (1-proz.) und 0,5 ccm Methylbutyrat zugesetzt. Ein durch das Glasröhrchen eingeleiteter Wasserstoffstrom besorgte die gute Durchmischung der Reaktionsflüssigkeit und hielt die Kohlensäure der Luft fern. Der während des Verbrauches verdampfte Ester mußte von Zeit zu Zeit ersetzt werden, damit immer eine Esterschicht sichtbar blieb, die Lösung also immer gesättigt war. Bei scharfer Beleuchtung des Versuchsgefäßes mit einer Tageslichtlampe wurde aus einer fein ausgezogenen Bürette vorsichtig so viel n/10-Barytlauge zugetropft, daß die Lösung immer eben rot gefärbt blieb.

Um alle möglichen Fehlerquellen auszuschalten, wurden folgende Blindversuche angestellt: Zur Ermittlung der mittleren Geschwindigkeit der Esterverseifung unter den oben angegebenen Bedingungen dienten mehrere Messungen ohne Katalysator. Außerdem wurde jeder einzelne Katalysator wieder unter denselben Bedingungen, natürlich bei Abwesenheit von Methylbutyrat, auf seine Beständigkeit gegenüber Alkalien geprüft. Dabei zeigte es sich, daß von den untenstehenden Katalysatoren folgende während 5—10 Min. gar keine Lauge verbrauchten: Glykolsäureanilid, 4-Methoxy-benzoylcarbinol, 4-Amino-benzoyl-

carbinol, ω-Oxy-acetophenon-4-carbonsäure. Das 4-Acetaminobenzoylcarbinol verbrauchte nur anfangs wenige Tropfen. Benzoylcarbinol selbst scheint unter diesen Bedingungen ziemlich beständig zu sein; nach 60 Min. hatte es 0,1 ccm n/10-Barytlauge neutralisiert. Dieser geringe Laugenverbrauch fiel bei der Esterhydrolyse natürlich nicht ins Gewicht, mußte aber bei der Fettverseifung in Rechnung gestellt werden. β-Naphtoylcarbinol ist gegen Laugen in geringer Konzentration völlig unempfindlich. Dagegen waren zwei Nitroderivate des Benzoylcarbinols, 4-Nitrobenzoylcarbinol und 3-Nitrobenzoylcarbinol, so unbeständig gegenüber Alkalien, daß sie überhaupt nicht gemessen werden konnten. Sie verbrauchten große Mengen Barytlauge und verharzten dabei vollkommen. Versuche, aus den harzigen Produkten irgendwelche Spaltstücke der Carbinole zu isolieren, waren erfolglos.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.
Ohne Katalys.	—	0,08	0,17	0,30	0,41	0,50	0,60
Glykolsäureanilid	5.10^{-4}	0,33	0,80	1,20	1,70	2,20	2,70
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	1,00	1,38	1,60	2,70	3,35	3,80
Benzoylcarbinol	2.10^{-4}	0,30	0,55	0,79	1,30	1,80	2,18
4-Acetamino-benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,25	0,51	0,79	1,11	1,40	1,70
4-Amino-benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,40	0,80	1,15	1,55	1,98	2,40
4-Methoxy-benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,35	0,85	1,36	1,82	2,40	3,00
ω-Oxyacetophenon-4-carbonsäure	5.10^{-4}	0,48	0,90	1,36	1,91	2,45	3,01
β-Naphtoylcarbinol	3.10^{-4}	0,65	1,28	1,90	2,40	3,10	3,72

Verseifung von Olivenöl.

2 ccm Olivenöl wurden mit 4 g gepulvertem Gummi arabicum und 1 ccm Wasser in der Reibschale so lange fein zerrieben, bis eine zähe Paste entstanden war. Dazu wurden nach und nach 100 ccm einer 5-proz. Lösung von desoxycholsaurem Natrium zugegeben und durch fortwährendes Reiben gut durchgemischt. 2 ccm dieser Emulsion dienten zu jeder Messung, die bei 80° und mit Phenolphtalein als Indikator vorgenommen wurde.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 30	60	90 Min.
ohne Katalysator	—	0,02	—	0,04
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,10	0,21	0,26

Die Menge Barytlauge, die der Katalysator im Blindversuch allein verbrauchte, ist bei der angegebenen katalytischen Zahlenreihe schon abgezogen.

Hemmung durch n-Propylalkohol.

In 20 ccm einer 50-proz. wässerigen Lösung von n-Propylalkohol wurden 2 ccm Methylbutyrat gelöst, ferner in 30 ccm 50-proz. wässerigen Aceton dieselbe Menge Ester. 2 ccm dieser Lösungen wurden für die einzelnen Messungen benutzt. Als Katalysator diente Benzoylcarbinol und zwar jedesmal 5.10^{-4} Mol. Die Lösungen waren bei allen diesen Versuchen völlig homogen. Während der Messung konnte kein Wasserstoff durch das Gefäß geleitet werden, weil sonst das Aceton bezw. der Propylalkohol zu rasch verdampft wären. Zwecks guter Durchmischung wurde deshalb mit einem Glasstab gerührt.

Lösungsmittel	Temp.	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 5	10	15	20	25	30 Min.
Ohne Kat. 50-proz. Propylalkohol	80°	0,34	0,73	1,08	1,42	1,72	1,90
Mit Kat. 50-proz. Propylalkohol	80°	0,42	0,90	1,32	1,74	2,13	2,42
Ohne Kat. 50-proz. Aceton	70°	0,08	0,18	0,28	0,35	0,42	—
Mit Kat. 50-proz. Aceton	70°	0,20	0,50	0,75	1,00	1,23	—

Verseifung von äthylschwefelsaurem Kalium.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 10	20	30	40	50	60 Min.
Ohne Katalysat.	—	—	—	—	—	—	0,0
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	—	—	0,03	—	—	—
ω-Oxy-acetophenon-4-carbonsäure	5.10^{-4}	0,10	0,18	0,26	0,31	0,37	0,43

Substratkonzentration: 0,1 g freie Säure in 2 ccm Wasser.

Verseifung von phenylschwefelsaurem Kalium.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 10	20	30	40	50	60 Min.
Ohne Katalysat.	—	—	—	—	—	—	0,0
ω-Oxy-acetophenon-4-carbonsäure	5.10^{-4}	0,08	0,16	0,23	0,30	0,38	0,44

Substratkonzentration: 0,1 g freie Säure in 2 ccm Wasser.

Verseifung von Bernsteinsäure-monoäthylester.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 5	10	15	20	25	30 Min.
Ohne Katalys.	—	0,22	0,43	0,67	0,88	1,08	1,30
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,23	0,45	0,67	0,90	1,10	1,32
Glykolsäureanilid	5.10^{-4}	0,25	0,47	0,69	0,91	1,11	1,34
ω-Oxyacetophenon-4-carbonsäure	5.10^{-4}	0,30	0,56	0,82	1,08	1,33	1,60

Substratkonzentration: $6{,}6.10^{-4}$ Mol in 2 ccm Wasser.

Der Bernsteinsäure-monoäthylester wurde als Bariumsalz angewandt. Dieses war wie alle anderen Halbestersalze durch Waschen mit Aether sorgfältig vom Diäthylester befreit worden.

Verseifung von Acetylmandelsäure.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Baryzlauge nach 5	10	15	20	25	30 Min.
Ohne Katalys.	—	0,23	0,44	0,66	0,88	1,11	1,34
Glykolsäureanilid	5.10^{-4}	0,22	0,43	0,65	0,88	1,10	1,33

Substrationskonzentration: 13^{-3} Mol in 2 ccm Wasser.

1,06 g kristallwasser-haltige Acetylmandelsäure wurden mit Natronlauge genau neutralisiert und auf 10 ccm aufgefüllt. 2 ccm von dieser Lösung dienten für jede Messung.

Verseifung von Malonsäure-monoäthylester.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge 5	10	15	20	25	30 Min.
Ohne Katalys.	—	0,18	0,40	0,62	0,82	1,05	1,25
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,18	0,38	0,58	0,80	1,01	1,23

Der Ester wurde als Kaliumsalz eingewogen.

Substratkonzentration: 10^{-3} Mol in 2 ccm Wasser.

Verseifung von Adipinsäure-monoäthylester.

Katalysator	Menge in Molen	Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 5	10	15	20	25	30 Min.
Ohne Katalys.	—	0,06	0,10	0,15	0,19	0,23	0,27
Benzoylcarbinol	5.10^{-4}	0,11	0,20	0,29	0,38	0,46	0,53
ω-Oxy-acetophenon-4-carbonsäure	5.10^{-4}	0,21	0,39	0,57	0,74	0,91	1,08

Substratkonzentration: 10^{-3} Mol in 2 ccm Wasser.

Anwendung des Adipinsäure-monoäthylesters als Kaliumsalz, das mit besonderer Sorgfalt von etwa vorhandenen Diäthylester gereinigt worden war.

Verseifung von n-Buttersäure-methylester bei Gegenwart von Bernsteinsäure-monoäthylester.

Katalysator	Menge in Molen		Verbr. ccm n/10-Barytlauge nach 5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.
Glykolsäureanilid	5.10^{-4}	Gef.	0,65	1,30	1,80	2,53	3,30	4,13
.		Ber.	0,55	1,23	1,87	2,58	3,28	4,00

Angewandt wurden $6{,}6.10^{-4}$ Mole bernsteinsäure-monoäthylestersaures Barium und Methylbutyrat in gesättigter Lösung.

Die Zahlen der unteren Reihe sind berechnet aus der Summe der ccm Barytlauge, die bei der Verseifung von Methylbutyrat und von Bernsteinsäure-mono-äthylester mit Glykolsäure-anilid erhalten worden waren.

Lebenslauf.

Ich wurde geboren am 11. Juli 1910 zu Heggen, Kreis Olpe. Nach sechsjährigem Besuch der Volksschule und zweijährigem Privatunterricht bezog ich Ostern 1922 das Gymnasium zu Attendorn. Ostern 1929 legte ich an dieser Schule die Reifeprüfung ab und studierte dann an der Universität Köln sechs Semester lang Chemie. Zu Ende des Wintersemesters 1931/32 bestand ich hier den I. Teil des Verbandsexamens. Nach einer Unterbrechung im Sommer 1932 setzte ich mein Studium an der Universität Münster fort. Im Sommersemester 1933 bestand ich den II. Teil der Verbandsprüfung und promovierte am 8. Febr. 1935 auf Grund der vorliegenden Arbeit zum Dr. phil.